

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA**  
**DEPARTAMENTO DE ÓPTICA**



**MAPAS DE CONCENTRACIÓN DE CROMÓFOROS CON UN TELÉFONO MÓVIL**

Por:

Marco Bellisario

Eduardo Villota de la Puebla

Tutores:

Óscar Gómez Calderón

Eduardo Cabrera Granado

**TRABAJO DE FIN DE GRADO**

Presentado como requisito para optar al título de

Graduado en Óptica y Optometría

Madrid, junio 2019

## **AUTORIZACIÓN PARA LA DIFUSIÓN DEL TRABAJO FIN DE GRADO Y SU DEPÓSITO EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL E-PRINTS COMPLUTENSE**

Los abajo firmantes, alumnos y tutores del Trabajo Fin de Grado (TFG) en el Grado en Óptica y Optometría de la Facultad de Óptica y Optometría, autorizan a la Universidad Complutense de Madrid (UCM) a difundir y utilizar con fines académicos, no comerciales y mencionando expresamente a sus autores el Trabajo Fin de Grado (TFG) cuyos datos se detallan a continuación. Así mismo autorizan a la Universidad Complutense de Madrid a que sea depositado en acceso abierto en el repositorio institucional con el objeto de incrementar la difusión, uso e impacto del TFG en Internet y garantizar su preservación y acceso a largo plazo.

**TÍTULO del TFG: MAPAS DE CONCENTRACIÓN DE CROMÓFOROS CON UN TELÉFONO MÓVIL**

Curso académico: 2018 / 2019

Nombre de los alumnos:

Marco Bellisario

Eduardo Villota de la Puebla

Tutores del TFG y departamento al que pertenecen:

Dr. Óscar Gómez Calderón, departamento de Óptica

Dr. Eduardo Cabrera Granado, departamento de Óptica

Firma de los tutores

## Índice

|                               |        |
|-------------------------------|--------|
| 1. Resumen.....               | 03     |
| 2. Introducción.....          | 04     |
| 3. Desarrollo.....            | 05     |
| 3. a. Fundamento teórico..... | 05     |
| 3. b. Montaje.....            | 10     |
| 3. c. Procesado.....          | 12     |
| 3. d. Resultados.....         | 15     |
| 3. e. Ajuste del modelo.....  | 17     |
| 3. f. Validación.....         | 22     |
| 4. Conclusiones.....          | 24     |
| 5. Referencias.....           | 26     |
| <br>Anexo I.....              | <br>28 |
| Anexo II.....                 | 31     |
| Anexo III.....                | 33     |

## 1. Resumen

El siguiente trabajo aborda el estudio teórico, desarrollo informático [Anexo I] y montaje experimental de un dispositivo para la detección y control de anomalías cutáneas, como pueden ser lunares, moratones, quemaduras, melanomas, heridas u otro tipo de patología que conlleve una alteración de la irrigación sanguínea o de la pigmentación. Un programa se encarga de descomponer por intervalos de longitud de onda las imágenes digitales de las muestras de piel y procesarlas para su posterior interpretación.

El ensayo se basa en el artículo de investigación “Smartphone snapshot mapping of skin chromophores under triple-wavelength laser illumination” realizado por J. Spigulis, I. Oshina, A. Berzina y A. Bykov[1]. La investigación demuestra que con un aparato portátil y de bajo coste es posible obtener información cualitativa y cuantitativa de manera precisa y valida sobre el contenido de los tejidos orgánicos.

El propósito de este trabajo es realizar un montaje siguiendo el mismo principio de funcionamiento que se describe en la investigación de referencia, simplificando el modelo original y, por ello, consiguiendo disminuir, de manera significativa, los costes de construcción. El objetivo es sustituir las tres fuentes independientes cuasimonocromáticas con una de luz blanca y adaptar el programa, manteniéndolo lo más realista posible para no comprometer la validez de los resultados.

## 2. Introducción

En la actualidad los aparatos disponibles en el mercado para detectar patologías cutáneas suponen un coste económico alto y dependen de un ordenador para su funcionamiento, por lo que su uso es limitado a ciertas zonas geográficas y condiciones socio-económicas concretas: los más afectados son los países del tercer mundo donde la pobreza es retroalimentada por el limitado acceso de capital, falta de atención médica e infraestructuras, corrupción o carencia de un sistema educativo adecuado[2]. Por el contrario, las alteraciones de la dermis son algo muy común: por ejemplo, los lunares, que son tumores benignos resultantes de una acumulación de melanocitos, son típicos en la piel del ser humano. Algunos de ellos son congénitos, mientras que otros aparecen más tarde y se desarrollan con el tiempo, a menudo relacionados con la acumulación de excesivas horas de exposición a la luz solar a lo largo de la vida. Por las mismas razones, también pueden aparecer tumores malignos o, en ciertas condiciones, un tumor benigno puede transformarse en maligno. En estos casos, cuanto antes se diagnostica la patología, más fácil resulta el tratamiento y mayores son las probabilidades de que la vida del paciente no se vea en peligro. Sin embargo, un melanoma en sus primeros estadios de formación puede pasar desapercibido y existe el riesgo de que se descubra solo en una fase demasiado avanzada: lo recomendable es un control periódico y constante de la población en riesgo[3].

A raíz de estos hechos, el dispositivo de detección de imagen que se usa para este trabajo es la cámara de un teléfono móvil convencional. Las ventajas de usar un móvil para obtener la imagen que se procesará son muchas: por su dimensión reducida y portabilidad puede llevarse a cualquier sitio, no depende de una fuente de alimentación activa constante, su uso está ya muy extendido en todo el mundo, es intuitivo y fácil de usar, se puede conectar a Internet para almacenar datos o enviar los resultados, etc. Por estas razones el móvil es un instrumento ideal para simplificar y abaratar el equipo médico requerido, y para realizar un diagnóstico precoz, con el consiguiente seguimiento de patologías cutáneas, en ocasiones vital para el éxito del tratamiento.

### 3. Desarrollo

#### 3. a. Fundamento teórico

Se denominan cromóforos las partes de una molécula que absorben radiación ultravioleta (longitudes de onda por debajo de 400nm) o visible (longitudes de onda entre 380 y 780nm). Estas agrupaciones sufren transiciones energéticas por la presencia de dobles enlaces conjugados con grupos carbonilo o anillos aromáticos[4]. Cuando la luz blanca incide sobre la materia parte de ella es absorbida por un cromóforo y la energía de los fotones se transfiere a los electrones de la molécula. La parte del espectro que se refleja vuelve a nuestro ojo llevando la *información* del cromóforo en forma de variación de intensidad; los fotorreceptores que la reciben responden con una señal química que es descodificada por el cerebro y percibida como color[5]. Si en lugar del ojo humano, analizamos la luz que llega a la cámara de un móvil podemos conocer la composición del medio por el que ha pasado.

La piel humana presenta simultáneamente muchos cromóforos por los diferentes tejidos que la componen: cada uno de ellos tiene un espectro de absorción específico y absorbe selectivamente una banda de determinadas longitudes de onda. El espectro de la luz reflejada depende por lo tanto de la longitud de onda de absorción de los cromóforos comprendidos. Podemos agrupar los principales cromóforos biológicos según la zona del espectro que absorben: proteínas, agua y lípidos para infrarrojo; hemoglobina, melanina, flavinas,  $\beta$ -Caroteno y bilirrubina para visible; proteínas, aminoácidos y vitaminas para ultravioleta[6].

Un aspecto que hay que tener en cuenta es que la irradiancia que llega a la cámara se puede describir por absorción y scattering asociados a esos cromóforos, a través de la ecuación de Lambert-Beer. Hay varios cromóforos que aportan una contribución importante a la irradiancia, pero aquellos cuya variación de concentración diferencian la parte sana de la piel de la parte a analizar son oxihemoglobina, desoxihemoglobina y melanina. Estos cromóforos suponen interés para un estudio de anomalías en la piel: con ellos se puede evaluar si una anomalía está irrigada, si hay una variación de la concentración de melanina de la piel no visible a ojo desnudo, detectar posición y características de zonas de mayor vascularización, y hacer un seguimiento en el tiempo de la misma, etc.

Si en la piel se encontrasen más cromóforos de alta contribución y con variación de concentración relevante en las anomalías para esas longitudes de onda, el

modelo no sería válido y habría que considerar en las fórmulas los nuevos términos. Esto no es posible porque, como se ha planteado, este trabajo prevé el uso de la cámara fotográfica de un móvil para obtener las imágenes y, por ello, podemos contar con un sensor que solo capta el rango visible del espectro y lo reconstruye con la combinación de tres canales: en consecuencia, la gama de componentes relevantes que podemos estudiar es limitada.

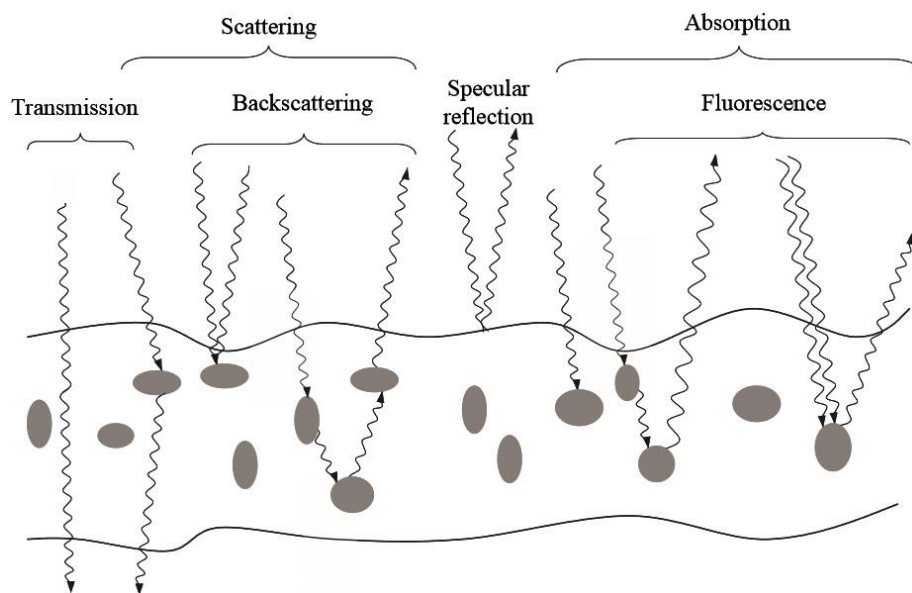
Habiendo definido los elementos sujetos de este estudio, se plantea ahora el modelo matemático para la determinación de la concentración de los tres cromóforos.

Cuando la luz incide sobre un tejido presenta distintas formas de interacción: reflectancia, transmitancia, absorción y scattering [Fig.1].

La reflectancia (R) es la relación entre la intensidad de la luz incidente y la intensidad de la luz reflejada. La parte de la luz que no es reflejada y entra en el tejido se llama luz transmitida y, de la misma forma, la transmitancia (T) es la relación entre la intensidad de la luz incidente y la intensidad de la luz que atraviesa el tejido. Reflectancia y transmitancia se calculan con las fórmulas de Fresnel y dependen del ángulo de incidencia y de los índices de refracción. Además, se cumple que:

$$R + T = 1$$

La reflexión sin fenómeno de scattering se llama reflexión especular y no modifica la longitud de onda ni el estado de polarización de la luz cuando el ángulo de incidencia es cercano a cero[7].



*Figura 1: tipos de interacción de la luz con el tejido [7].*

La absorción es el mecanismo principal de transferencia de energía a un tejido y tiene lugar cuando la frecuencia del fotón incidente coincide con la separación energética entre los niveles de átomos o moléculas. Se define como coeficiente de absorción  $\mu_a(\lambda)$  a la probabilidad por unidad de longitud de que un fotón se absorba. Al volver al estado fundamental desde un nivel excitado, la energía absorbida es disipada por mecanismos internos en un proceso no radiativo, o emitida como fotones a una longitud de onda mayor respecto a la de entrada: este fenómeno se llama fluorescencia.

De forma parecida, la luz que no ha sido reflejada en la primera superficie y penetra en los tejidos sufre un fenómeno llamado scattering. Este fenómeno se puede describir como el cambio de dirección aleatorio de los fotones debido a la interacción con partículas del medio atravesado. Si la dimensión de dicha partícula es mucho más pequeña que la longitud de onda se produce scattering tipo Rayleigh, donde el fotón puede desviarse en cualquier dirección del espacio. Si por lo contrario su dimensión es igual o mayor a la longitud de onda se produce scattering tipo Mie y el fotón tiende a desviarse apenas de la dirección original. Las estructuras de la piel que pueden causar estos procesos de scattering son fibras de colágeno, membranas celulares, núcleos celulares, mitocondrias, etc.[8] Llamamos por lo tanto al coeficiente de scattering  $\mu_s(\lambda)$  a la probabilidad por unidad de longitud de que un fotón sea desviado en un medio.

Estos tres fenómenos se relacionan entre ellos en la ley de Lambert-Beer: teniendo un tejido de espesor  $l$ , coeficientes de absorción  $\mu_a(\lambda)$  y de scattering  $\mu_s(\lambda)$ , la relación entre la intensidad de la luz incidente y la intensidad de la luz que atraviesa el tejido es:

$$\frac{I}{I_0} = e^{-(\mu_a(\lambda) + \mu_s(\lambda)) \cdot l}$$

La Ley de Lambert-Beer explica el decaimiento de intensidad de la luz al atravesar un medio. La suma de los coeficientes de absorción y de scattering se define como coeficiente de extinción  $\mu_t(\lambda)$ . La densidad del medio que la luz atraviesa también influye en la pérdida de intensidad, por lo que es necesario definir otros dos parámetros: absortancia y coeficiente de absorción molar[9].

El coeficiente de absorción molar  $\epsilon_m(\lambda)$  es la probabilidad por unidad de longitud y de concentración de que un fotón se absorba. Por tanto:

$$\epsilon_m(\lambda) \cdot C = \mu_a(\lambda) \cdot \log_{10} e$$

La absortancia liga entre ellos todos los anteriores conceptos y se define como:



$$A = -\log_{10} T = \varepsilon_m(\lambda) \cdot C \cdot l$$

Queremos poder usar como muestra una imagen de tejido *in vivo* de cualquier parte del cuerpo, por lo que la luz que llegará a la cámara no va a ser la que atraviese el tejido sino la que se vea reflejada por la primera superficie y la que penetra e invierte de sentido debido a los procesos de scattering internos. Para ajustar el modelo a las fórmulas consideramos como espesor  $l$  del tejido a la media del recorrido de los fotones que entran y vuelven a salir del mismo. Los fotones que no se reflejan sufren absorción y múltiples procesos de scattering durante todo el recorrido dentro del tejido.

Además, la piel es un tejido compuesto por una gran variedad de elementos, cada uno con sus distintos coeficientes: para cada elemento llamamos coeficiente de extinción molar  $\varepsilon(\lambda)$  a la suma de sus contribuciones de absorción y de scattering. La absorbancia en función de todos esos distintos elementos se calcula en función de la suma de los productos de los coeficientes de extinción por su concentración:

$$A = (\sum \varepsilon_i(\lambda) \cdot C_i) \cdot l$$

Como se comentaba previamente, podemos considerar solo oxihemoglobina, desoxihemoglobina y melanina como cromóforos relevantes para el estudio: no consideramos en el modelo los que presentan baja contribución, los que absorben en rangos de longitudes de onda fuera del visible y los que tienen la misma concentración para una anomalía y un tejido sano, ya que ninguno de ellos va a afectar a los resultados. Queremos conocer cómo varía la concentración de estos

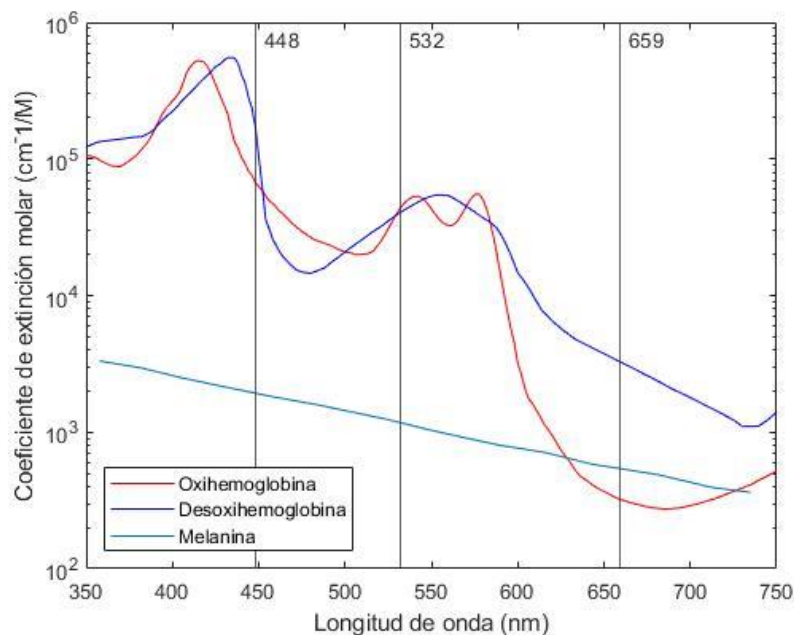
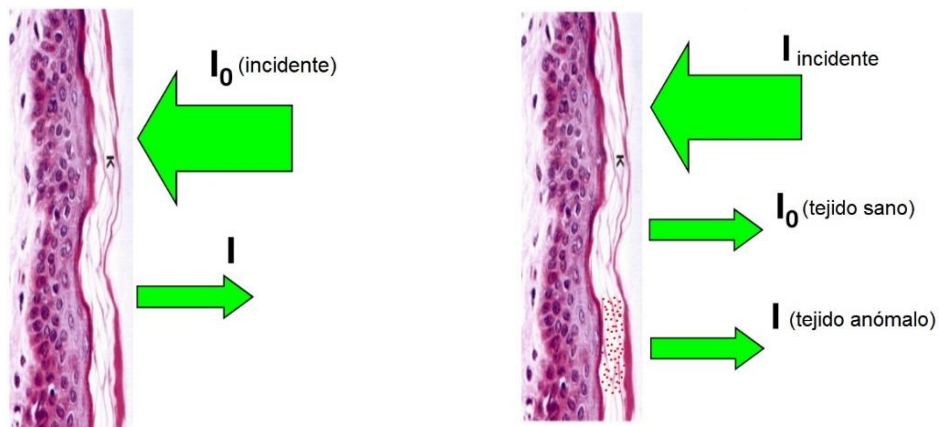


Figura 2: curvas de extinción molar de los tres principales cromóforos de la piel [Anexo III]. Están marcadas en la figura las longitudes de onda de referencia.

tres cromóforos, por lo que tenemos una ecuación de tres incógnitas. Para resolverla generaremos un sistema de ecuaciones lineal para tres longitudes de onda distintas [Fig.2], ya que el coeficiente de extinción depende de  $\lambda$  y se conoce, el recorrido  $l$  es constante y las intensidades  $I$  e  $I_0$  se sacan de la imagen de muestra para cada  $\lambda$ . Una última consideración nos llevaría a recordar que en la ley de Lambert-Beer  $I_0$  representa la intensidad de la luz que llega al tejido e  $I$  la que sale después de atravesarlo. En nuestro modelo  $I_0$  es la intensidad de la luz reflejada que sale del tejido considerado sano, e  $I$  la que sale del tejido anómalo [Fig.3]. De esta forma, en lugar de la concentración absoluta, la relación  $\frac{I}{I_0}$  nos proporciona directamente la variación de concentración  $\Delta C_i$  y simplifica la interpretación del mapa en falso color resultante del procesado. Por lo tanto, la variación de concentración de los cromóforos en un punto del tejido se obtiene resolviendo el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{cases} -\log_{10} \frac{I_1}{I_{01}} = [\Delta C_{oxy} \cdot \epsilon_{oxy}(\lambda_1) + \Delta C_{des} \cdot \epsilon_{des}(\lambda_1) + \Delta C_{mel} \cdot \epsilon_{mel}(\lambda_1)] \cdot l_1 \\ -\log_{10} \frac{I_2}{I_{02}} = [\Delta C_{oxy} \cdot \epsilon_{oxy}(\lambda_2) + \Delta C_{des} \cdot \epsilon_{des}(\lambda_2) + \Delta C_{mel} \cdot \epsilon_{mel}(\lambda_2)] \cdot l_2 \\ -\log_{10} \frac{I_3}{I_{03}} = [\Delta C_{oxy} \cdot \epsilon_{oxy}(\lambda_3) + \Delta C_{des} \cdot \epsilon_{des}(\lambda_3) + \Delta C_{mel} \cdot \epsilon_{mel}(\lambda_3)] \cdot l_3 \end{cases}$$

Como se ha explicado anteriormente, la ventaja de usar la cámara de un móvil para obtener la imagen que se procesará es por supuesto la fácil manejabilidad y la disponibilidad, ya que actualmente el uso de teléfonos móviles es universal. Por lo contrario, el empleo de un móvil también proporciona una gran desventaja: si quisiéramos estudiar más de tres cromóforos no bastaría simplemente con resolver una ecuación de cuatro incógnitas, porque se necesitaría una cuarta longitud de onda, y el sensor RGB de la cámara limita la composición de la imagen de salida a



*Figura 3: luz incidente y transmitida según la ley de Lambert-Beer (a la izquierda), modelo teórico adaptado para la comparación de tejidos sanos y anómalos (a la derecha) [8].*



*Figura 4: esquema del montaje y prototipo con los módulos laser realizado en la investigación [3].*

los respectivos tres canales de color. Es decir, en principio solo se podría estudiar la concentración de tres cromóforos a la vez.

### **3. b. Montaje**

El montaje del artículo prevé un dispositivo con un complejo sistema de tres módulos láser como fuente de iluminación para el tejido [Fig.4]. Las longitudes de onda usadas son las de 448, 532 y 659 nm y se han elegido para adaptarse mejor a los máximos de absorción de los cromóforos. En este trabajo prescindimos de la fuente de iluminación láser e iluminamos la muestra con luz difusa del propio flash del móvil para simplificar el montaje. De esta forma en vez de estudiar las intensidades en función de la longitud de onda directamente de la imagen, necesitamos procesar la imagen con un programa de cálculo y aislar los canales de color correspondientes a esas longitudes de onda. Sin embargo, dichos canales RGB son los fijos del dispositivo, no se pueden modificar y abarcan un intervalo de longitudes de onda en lugar de una sola. La calidad del resultado no será la misma que en el ensayo original, pero se simplifica enormemente su realización, debido a la dificultad que supondría encontrar y montar sobre el móvil los módulos, el sistema de alimentación, de espejos, y otros elementos presentes en el experimento de partida.

Para añadir precisión al procesado se usan dos polarizadores perpendiculares uno respecto a otro, uno delante del sensor y otro delante del flash. Estos sirven para quitar la reflexión especular de la primera superficie y que no se produzcan reflejos luminosos en la imagen final [Fig.5]. Como se refería con anterioridad, en la reflexión especular se mantiene el ángulo de polarización: la luz del flash filtrada que se refleja en la primera superficie es bloqueada por el segundo filtro y no llega al

sensor, mientras que la luz que entra y sale del tejido vuelve a estar despolarizada por los procesos internos de scattering y es captada por la cámara[10].

Esta mejora no tendría sentido si llegasen al sensor fotones reflejados provenientes de una fuente de luz diferente al flash, como la luz ambiental. Casi todas las fuentes de luz comunes producen luz despolarizada, incluidas la del sol y la incandescente. Cuando una superficie es incandescente y genera luz, los átomos que la componen actúan de forma independiente uno del otro y emiten breves trenes de ondas de duración entre  $10^{-9}$  y  $10^{-8}$  segundos. La superposición de esos trenes de onda, cada uno con su ángulo de polarización casual, resulta en una onda electromagnética cuya polarización cambia constantemente y al azar. Tales ondas se llaman despolarizadas y por lo tanto pueden atravesar el filtro delante del sensor, mezclarse con las que salen del tejido y falsear el resultado[11].

Esta influencia de la iluminación residual se puede evitar realizando la foto en condiciones de completa oscuridad. En el caso de este experimento, para no depender de las condiciones de luz externas, se ha montado un cono de plástico negro opaco encima de la carcasa del móvil, dejando en el centro el flash y el sensor [Fig.6]. Además, para conseguir las condiciones deseadas se ha realizado la foto con la ayuda de una tela negra, con el objetivo de evitar que filtre luz por los bordes del cono independientemente de la parte del cuerpo que se esté explorando. El cono se ajusta a la abertura angular del sensor y sirve además como superficie de apoyo para mantener constante la distancia entre el tejido y la cámara, alrededor de 5 cm.



*Figura 5: ejemplo de reflexión especular. A la izquierda la foto muestra el reflejo luminoso del flash en la superficie lucida. La foto de la derecha muestra la ausencia de reflejo después de colocar filtros polarizadores delante del sensor y del flash del móvil.*



*Figura 6: montaje usado para la captura de las fotos. El cono se ha obtenido cortando la punta de un embudo y pegándolo a una carcasa de móvil con silicona. El conjunto ha sido pintado de negro como se aprecia en la imagen.*

### 3. c. Procesado

El programa elegido para el procesamiento de la imagen es Matlab: este es un sistema de cómputo numérico con un lenguaje de programación propio que permite la manipulación de matrices, representación de datos y funciones, implementación de algoritmos etc.[12]

El primer paso es almacenar las imágenes de colores en forma de tres matrices uint8 sobrepuestas –una por canal–, donde cada valor corresponde a un píxel y representa la intensidad de cada uno de los colores primarios. La intensidad de cada canal es indicada por un número entero de una escala entre 0 y 255. Se separan los canales RGB para su tratamiento individual se transforman de valores uint8 a números reales (valores *double*) para operar con ellos en el algoritmo[13]. Las fórmulas incluyen logaritmos y, como medida de prevención para que no salga un infinito negativo en los resultados, se le suma a cada canal  $1^{-10}$ , un número suficientemente pequeño como para no afectar al cálculo pero que evita que ninguno de los valores de la matriz pueda ser cero.

```
% Cargar imagen uint8
foto=imread('Nombre del archivo');
% Separar canales RGB, transformar a double, sumar numero
Ri=im2double(foto(:,:,1)); R=(1e-10)+Ri;
Gi=im2double(foto(:,:,2)); G=(1e-10)+Gi;
Bi=im2double(foto(:,:,3)); B=(1e-10)+Bi;
```

A continuación, se nombran y almacenan manualmente las constantes de las propiedades ópticas del tejido que el programa va a necesitar para realizar el procesado.

El siguiente paso es obtener el valor de referencia  $I_0$  para calcular la variación de concentración con respecto a cada cromóforo: se le pide al programa que nos muestre en pantalla la imagen en color original en mayor tamaño y se marca manualmente con un rectángulo una zona que se considera sana [Fig.7]. Una vez que la submatriz seleccionada ha sido descompuesta por canales RGB y estos pasados a *double*, se calculan las medias de los valores para cada uno. De esta forma se han obtenido como referencia  $I_0$ , las medias de las intensidades de todos los píxeles de la zona sana para cada canal: este paso es importante puesto que, incluso en una zona sana el color no es uniforme en todos los puntos y, basando el estudio sobre un solo píxel, existe el riesgo de que los mapas de concentración resulten falseados y, por tanto, que el diagnóstico sea erróneo.

```
% Mostrar la imagen y elegir una zona sana de referencia
figure; imshow(foto);
set(gcf, 'Units', 'Normalized', 'OuterPosition', [0 0 1 1]);
set(gcf, 'Toolbar', 'none', 'Menu', 'none');
set(gcf, 'Name', 'Imagen por diagnosticar', 'NumberTitle', 'Off');
title('Elegir la zona de referencia (arrastrar con tecla izquierda del
raton y con tecla derecha elegir opción crop)');
submatriz=imcrop;
close;
% Separar canales, transformar en double la submatriz y calcular la media
de sus valores
submatrizR=im2double(submatriz(:,:,1));
submatrizG=im2double(submatriz(:,:,2));
submatrizB=im2double(submatriz(:,:,3));
Io1=mean2(submatrizB); % Intensidades para Lamda_1=448nm (color B)
Io2=mean2(submatrizG); % Intensidades para Lamda_2=532nm (color G)
Io3=mean2(submatrizR); % Intensidades para Lamda_3=659nm (color R)
```

Una vez que todas las constantes han quedado definidas, se realiza el cálculo de las concentraciones. Para simplificar la cuenta se resuelve el sistema de ecuaciones lineales mediante producto de matrices y tendrá la forma  $X \cdot C = K$ :

$$\begin{bmatrix} \varepsilon_{oxy}(\lambda_1) \cdot l_1 & \varepsilon_{des}(\lambda_1) \cdot l_1 & \varepsilon_{mel}(\lambda_1) \cdot l_1 \\ \varepsilon_{oxy}(\lambda_2) \cdot l_2 & \varepsilon_{des}(\lambda_2) \cdot l_2 & \varepsilon_{mel}(\lambda_2) \cdot l_2 \\ \varepsilon_{oxy}(\lambda_3) \cdot l_3 & \varepsilon_{des}(\lambda_3) \cdot l_3 & \varepsilon_{mel}(\lambda_3) \cdot l_3 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \Delta C_{oxy} \\ \Delta C_{des} \\ \Delta C_{mel} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -\log_{10} \frac{I_1}{I_{01}} \\ -\log_{10} \frac{I_2}{I_{02}} \\ -\log_{10} \frac{I_3}{I_{03}} \end{bmatrix}$$

El sistema de ecuaciones calcula la variación de la concentración de los tres cromóforos en relación a la intensidad de referencia de cada canal para un punto.



Figura 7: el programa muestra la imagen que se quiere analizar. Se pide indicar con un rectángulo la zona de piel sana y se elige la opción crop.

Para construir los mapas se crean dos bucles *for* que realizan un barrido por columnas y filas, resolviendo el sistema de ecuaciones para cada píxel de la imagen. Los productos de los coeficientes de extinción molar por los recorridos en la matriz X son también constantes, por lo que se pueden sacar del bucle y calcular aparte para evitar que el programa los tenga que volver a sobrescribir por cada bucle. Los valores de la matriz resultado K con los logaritmos se mantienen dentro del bucle, porque mientras que  $I_{0i}$  son intensidades de referencia constantes,  $I_i$  es la intensidad de cada píxel. El sistema de ecuaciones simplificado queda:

$$\begin{bmatrix} a1 & b1 & c1 \\ a2 & b2 & c2 \\ a3 & b3 & c3 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \Delta C_{oxy} \\ \Delta C_{des} \\ \Delta C_{mel} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} k1 \\ k2 \\ k3 \end{bmatrix}$$

Se definen las matrices reducidas y sus dimensiones, y se resuelve el sistema a través del comando *linsolve*.

```
% Resolver el sistema de ecuaciones lineal
% Multiplicar las constantes
a1 = L1 * E_oxy_l1; b1 = L1 * E_hemo_l1; c1 = L1 * E_mela_l1;
a2 = L2 * E_oxy_l2; b2 = L2 * E_hemo_l2; c2 = L2 * E_mela_l2;
a3 = L3 * E_oxy_l3; b3 = L3 * E_hemo_l3; c3 = L3 * E_mela_l3;
% Definir las dimensiones de las matrices
[M,N]=size(R);
delta_Co=zeros(size(R)); delta_Ch=zeros(size(R)); delta_Cm=zeros(size(R));
% Doble bucle
X=[a1 b1 c1 ; a2 b2 c2 ; a3 b3 c3];
for j=1:M
    for n=1:N
        k1 = -log10(B(j,n)/Io1);
        k2 = -log10(G(j,n)/Io2);
        k3 = -log10(R(j,n)/Io3);
        K=[k1 ; k2 ; k3];
        S=linsolve(X,K);
```



```

        delta_Co(j,n)= S(1,1);
        delta_Ch(j,n)= S(2,1);
        delta_Cm(j,n)= S(3,1);
    end
end

```

El último paso es mostrar los mapas de variación de concentración en una escala de falso color con el comando *imagesc*: para que la visualización del mapa sea óptima, el programa transforma la matriz en un único vector, realiza un barrido de los valores máximos y mínimos de cada canal y los usa para ajustar la escala.

```

% Encontrar valor máximo y mínimo de la matriz 1
delta_Co(:);
[max1,I1] = max(delta_Co(:)); [min1,I1] = min(delta_Co(:))
[I1_row, I1_col] = ind2sub(size(delta_Co),I1);
max1 = max(max(delta_Co)); min1 = min(min(delta_Co));
% Encontrar valor máximo y mínimo de la matriz 2
delta_Ch(:);
[max2,I2] = max(delta_Ch(:)); [min2,I2] = min(delta_Ch(:));
[I2_row, I2_col] = ind2sub(size(delta_Ch),I2);
max2 = max(max(delta_Ch)); min2 = min(min(delta_Ch));
% Encontrar valor máximo y mínimo de la matriz 3
delta_Cm(:);
[max3,I3] = max(delta_Cm(:)); [min3,I3] = min(delta_Cm(:));
[I3_row, I3_col] = ind2sub(size(delta_Cm),I3);
max3 = max(max(delta_Cm)); min3 = min(min(delta_Cm));
% Visualizar las fotos en falsocolor
clims1=[min1,max1]; clims2=[min2,max2]; clims3=[min3,max3];
figure; imagesc(delta_Co,clims1); title('Variacion de Co'); colorbar;
figure; imagesc(delta_Ch,clims2); title('Variacion de Ch'); colorbar;
figure; imagesc(delta_Cm,clims3); title('Variacion de Cm'); colorbar;
% Fin

```

### 3. d. Resultados

Como primer enfoque, se ha comprobado que el modelo simplificado funciona, asumiendo las mismas constantes ópticas del original [Tabla 1]: consideramos los coeficientes de extinción molar y los recorridos ópticos en el medio como aquellos

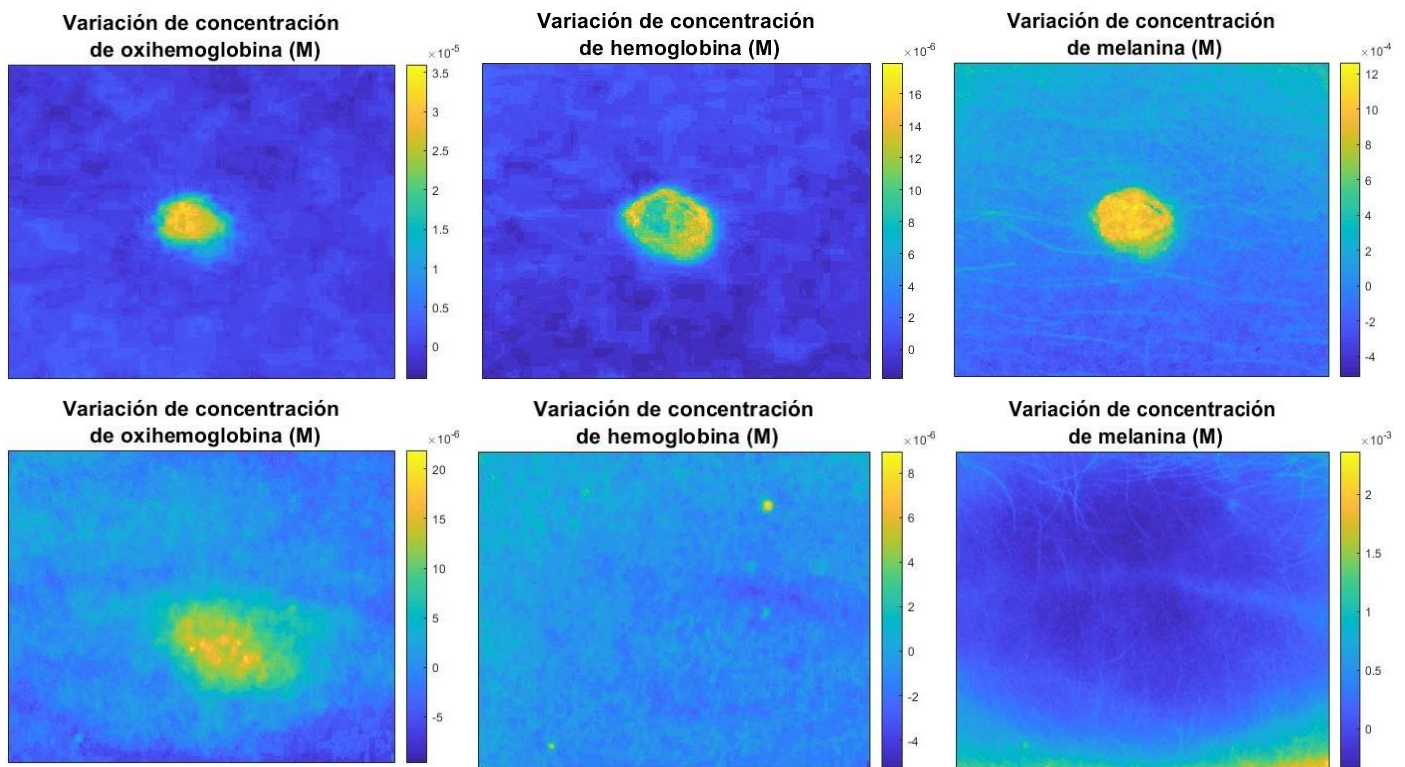


*Figura 8: las muestras de piel que han sido usadas para el estudio. Las fotos han sido sacadas con la cámara de un móvil equipada con polarizadores.*



correspondientes a las longitudes de onda de los módulos láser utilizados en el artículo (448, 532 y 659 nm). Todos los coeficientes de los cromóforos usados se han extraído de unas tablas, mientras que las medias de los recorridos se han obtenido con un estudio estadístico[14][15].

Se ha realizado la captura de dos imágenes *in vivo* para el estudio: una zona de piel de un brazo, en las que se distinguen unas venas y que ha sido rasgada para producir un enrojecimiento local, y un lunar en relieve de 4mm de diámetro [Fig.8]. Las fotos han sido tomadas con un móvil marca Huawei modelo P20. Este dispone de una cámara de 24 megapíxeles con tres sensores, RGB, Mono y Telefoto: para el estudio solo es necesario el sensor RGB por lo que se han cubierto los otros para evitar la falsación de datos. El teléfono ha sido montado sobre la carcasa modificada



*Figura 9: resultados del primer procesado usando las constantes originales. Los mapas muestran las variaciones de concentración de oxihemoglobina, hemoglobina y melanina en M para el lunar (fila de arriba) y la piel dañada (fila de abajo).*

| <b>Cromóforos</b> | $\epsilon_i(448nm) M^{-1}cm^{-1}$ | $\epsilon_i(532nm) M^{-1}cm^{-1}$ | $\epsilon_i(659nm) M^{-1}cm^{-1}$ |
|-------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Oxihemoglobina    | 67044                             | 45400                             | 320                               |
| Hemoglobina       | 173320                            | 41336                             | 3227                              |
| Melanina          | 1935                              | 1170                              | 541                               |

*Tabla 1: coeficientes de extinción molar de los tres principales cromóforos de la piel para tres longitudes de onda, usados en la investigación original.*

con el cono para conseguir condiciones de oscuridad, como se ha descrito anteriormente, y se han colocado los polarizadores delante del sensor y del flash.

Como se puede comprobar en los mapas obtenidos, el procesado ha tenido éxito [Fig.9]: el programa ha detectado un aumento de la concentración de los tres cromóforos en el lunar respecto a la piel que lo rodea, pintando su superficie con distintos colores según las variaciones de concentración de cada una. En la otra imagen podemos apreciar con más claridad incluso la visualización selectiva de los diferentes cromóforos: en la zona central de la fotografía el daño epitelial causado con las uñas en la superficie dérmica se ha tornado rojo por el aumento de sangre y es reflejado en el mapa de variación de concentración de oxihemoglobina con un gran aumento de la misma, respecto a la piel alrededor. Por el contrario, la zona dañada resulta invisible en los mapas de variación de concentración de hemoglobina y de melanina, ya que la concentración de estos cromóforos permanece constante tanto en la piel normal como en la alterada. En el mapa de variación de concentración de oxihemoglobina se ven las venas como zonas más oscuras, debido a que hay una disminución de dicho cromóforo por la prevalencia de la cantidad de hemoglobina sobre la oxihemoglobina en los vasos sanguíneos superficiales.

### 3. e. Ajuste del modelo

Una vez que el procesado para el estudio se ha llevado a cabo con éxito, se pretende mejorar el modelo teórico del experimento para que se adapte lo más



*Figura 10: ejemplo en Matlab de cómo se puede separar una imagen en los tres canales cromáticos y reconstruirla con ellos obteniendo de nuevo la original.*

posible al fenómeno físico y que los resultados tengan validez médica para un diagnóstico. Para ello hay que conocer el fundamento de los dispositivos de captura de imagen.

Como sabemos, una fotografía digital mostrada en una pantalla está compuesta por la combinación de grupos de píxeles con correlación espacial; cada pixel está formado por la mezcla de los tres colores primarios en distintas cantidades. En otras palabras, una foto digital a color se obtiene sobreponiendo tres imágenes monocromáticas, que llamamos canales, cada cual lleva toda la información sobre la intensidad de ese color para cada pixel [Fig.10][16]. La composición cromática de los pixeles es el principio sobre el que se basa el procesado de imagen en este trabajo.

El sensor de una cámara es lo que se ocupa de captar, reconocer y transformar las características de los fotones que le llegan en información virtual almacenable. Para poder recrear esos canales a sobreponer, el propio sensor desglosa la luz en una combinación de rojo, verde y azul. La precisión y eficacia con la que un sensor detecta la intensidad de cada canal recibe el nombre de sensibilidad espectral y depende de los parámetros de construcción del aparato: se describe como una curva

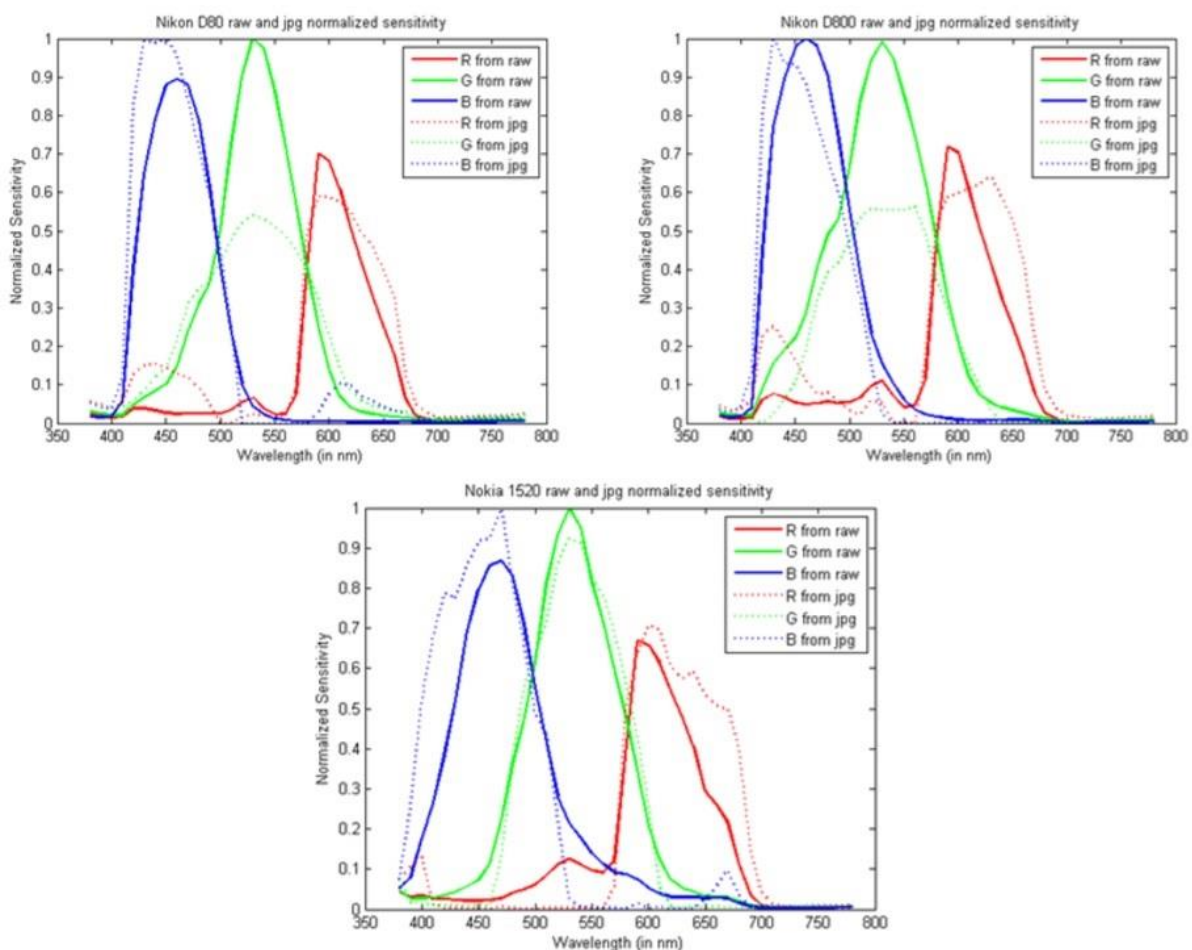
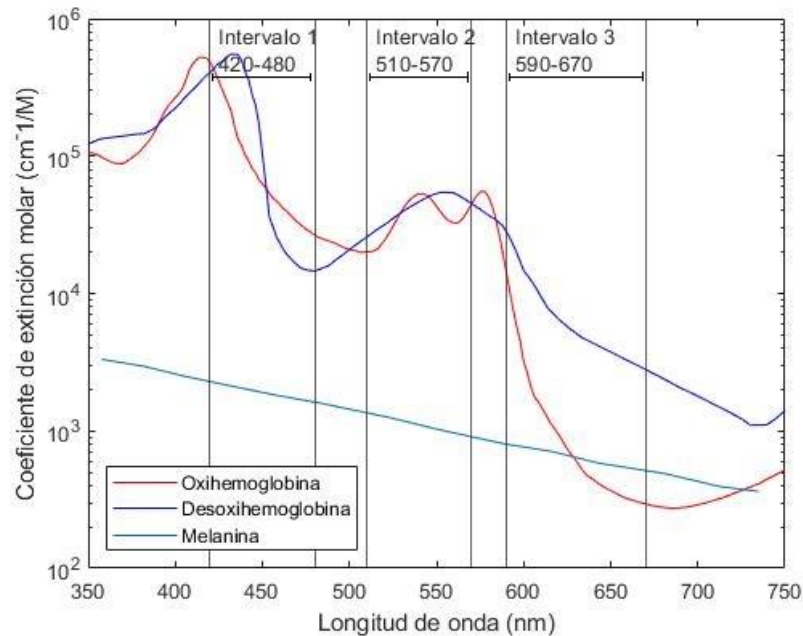


Figura 11: ejemplos de curvas de sensibilidad espectral para distintos tipos de sensores [18].



*Figura 12: curvas de extinción molar de los tres principales cromóforos de la piel [Anexo III]. Están marcados en la figura los intervalos de longitudes de onda correspondientes a los picos de sensibilidad espectral del sensor.*

de sensibilidad en función de la longitud de onda [Fig.11]. La posición y dimensión de los picos están limitadas por el umbral de absorción del material usado como semiconductor[17].

Como se ha expuesto, en la investigación original el sistema de triple iluminación con láser permite una medida precisa debido a que la longitud de onda se puede considerar puntual y corresponde a un solo coeficiente de extinción molar. En el caso de este estudio, usando la luz blanca difusa del flash y separando los tres canales RGB se ha de considerar esa sensibilidad espectral: como se ha declarado, el sensor de la cámara no presenta la misma sensibilidad para todas las longitudes de onda y por lo tanto los coeficientes de absorción molar usados en el montaje original no se ajustan del todo a nuestro caso.

Para resolver el problema, se ha seleccionado para cada canal un intervalo de longitudes de onda que coincida con el pico de máxima respuesta espectral de la cámara para ese color. El objetivo es usar los valores de los coeficientes de extinción molar de esos mismos intervalos para encontrar un nuevo valor promedio que se ajuste con más exactitud al modelo.

Una aproximación del rango útil de sensibilidad espectral se ha sacado de un estudio previo para distintos modelos de sensores[18]: como sus umbrales son muy parecidos, se considera despreciable la variación de dimensión del intervalo de un

modelo a otro y se toman las longitudes de onda de 420 a 480nm para el canal azul, de 510 a 570nm para el verde y de 580 a 640nm para el rojo [Tabla 2][Fig.12].

Se ha desarrollado en Matlab un programa [Anexo II] que calcula las medias ponderadas de los coeficientes de absorción molar de las tablas para los intervalos de longitudes de onda dados. El programa busca el valor máximo en cada intervalo y lo usa para calcular la relación en porcentaje con el resto de valores del vector; los porcentajes se aplican a los valores respectivos del intervalo y se calcula la media del vector resultante. Se obtiene de esta forma la media ponderada de cada intervalo, como se muestra en el código a continuación. Además, se ha realizado una regresión polinomial para ajustar una curva a los valores de los coeficientes de extinción molar de la melanina con el fin de mejorar la precisión de la media ponderada de sus intervalos, debida la escasa cantidad de datos tabulados para este cromóforo.

```
[row1,col] = find(Cord_min_int1);
[row2,col2] = find(Cord_max_int1);
% Coeficiente de extinción molar oxihemoglobina para el intervalo 1
submatrizE_oxy_int1 = Y1(row1:row2,1);
[max11,I1] = max(submatrizE_oxy_int1(:));
matriz_relacion11= submatrizE_oxy_int1 * (1/max11);
valores_ponderados11 =(submatrizE_oxy_int1.* matriz_relacion11);
media_E_oxy_int1 = mean(valores_ponderados11,1)
% Coeficiente de extinción molar hemoglobina para el intervalo 1
submatrizE_hemo_int1 = Y2(row1:row2,1);
[max12,I1] = max(submatrizE_hemo_int1(:));
matriz_relacion12= submatrizE_hemo_int1 * (1/max12);
valores_ponderados12 =(submatrizE_hemo_int1.* matriz_relacion12);
media_E_hemo_int1 = mean(valores_ponderados12,1)
% Coeficiente de extinción molar melanina para el intervalo 1
A1=lambda_min1:1:lambda_max1;
submatrizE_mela_int1=0.022*(A1.^2)- 31.474*A1 + 11700;%Regresión polinomial
[max13,I1] = max(submatrizE_mela_int1);
matriz_relacion13= submatrizE_mela_int1 * (1/max13);
valores_ponderados13 =(submatrizE_mela_int1.* matriz_relacion13);
media_E_mela_int1 = mean(rot90(valores_ponderados13,1))
```

La otra constante que se ve afectada es la longitud del recorrido óptico dentro de un tejido: en el artículo se ha obtenido para varias longitudes de onda usando el método de Monte Carlo: una simulación matemática de estimación estadística que permite resolver problemas probabilísticos y aproximar expresiones complejas[19]. Como en el caso de los coeficientes de extinción molar, la profundidad de penetración también depende de la longitud de onda. En este caso, no disponiendo de un método de cálculo para volver a medir la distancia, no es posible mejorar los



valores en este estudio y se van a seguir usando las longitudes de penetración del artículo.

Se ha vuelto a procesar las mismas imágenes con las nuevas constantes [Fig.13]. Igual que antes, el programa ha detectado las estructuras anómalas en las fotografías usadas: se ha comprobado el aumento de oxihemoglobina en la zona de piel rasgada, y de melanina y sangre en el lunar, pudiendo apreciarse su delimitación con la dermis.

Respecto al procesado anterior, usando los coeficientes adaptados se puede notar en los resultados una mejora en la visualización de la variación de concentración de hemoglobina: en la muestra de piel rasgada, donde antes solo el aumento de oxihemoglobina revelaba la zona dañada, ahora también es visible en el mapa de variación de hemoglobina como una mancha más oscura, a indicar una

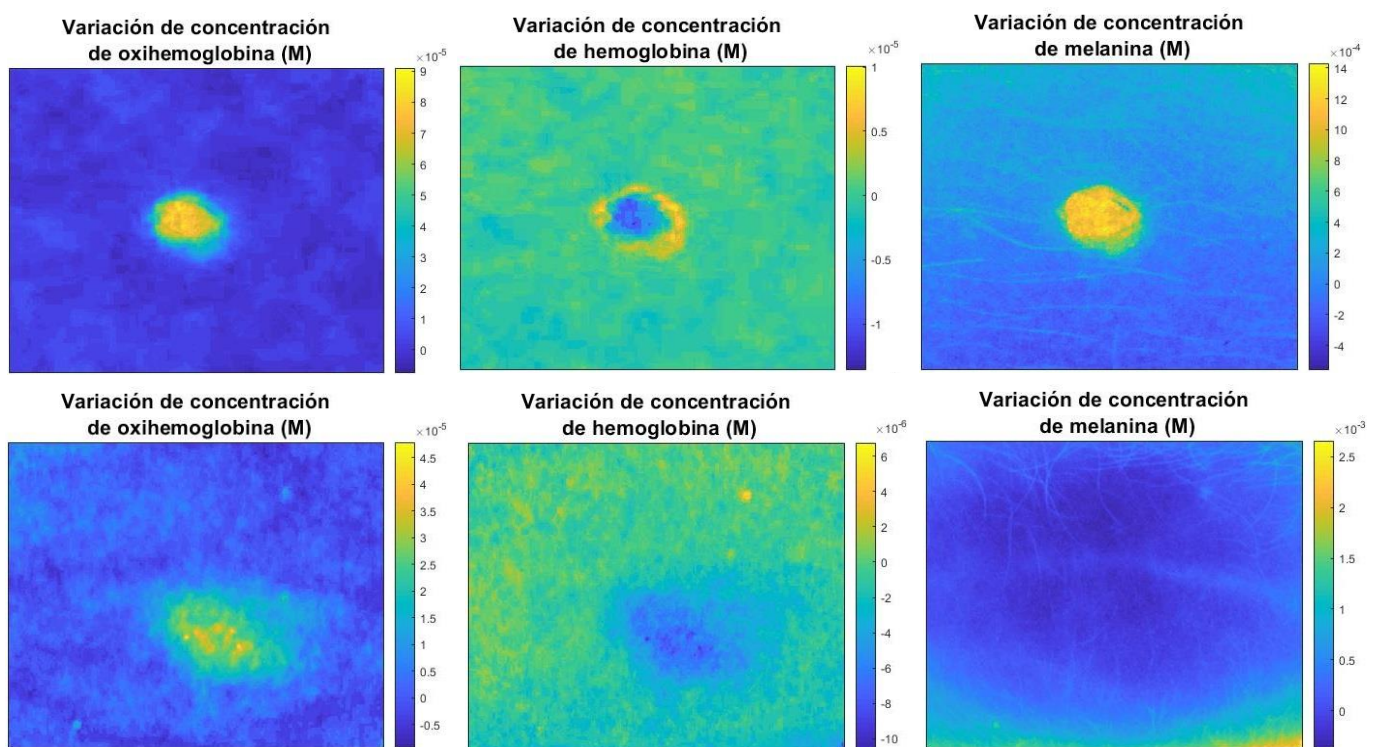
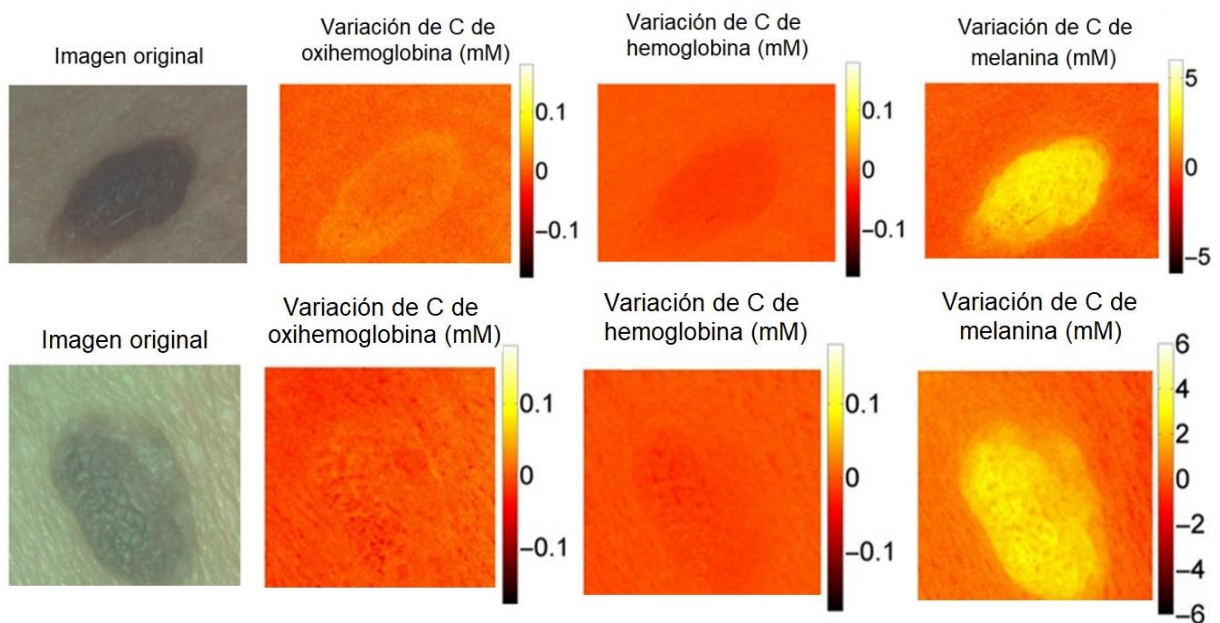


Figura 13: resultados del segundo procesado usando las constantes ajustadas al nuevo modelo. Los mapas muestran las variaciones de concentración de oxihemoglobina, hemoglobina y melanina en M para el lunar (fila de arriba) y la piel dañada (fila de abajo).

| <b>Cromóforos</b> | $\epsilon_i(420-480nm)$<br>$M^{-1}cm^{-1}$ | $\epsilon_i(510-570nm)$<br>$M^{-1}cm^{-1}$ | $\epsilon_i(590-670nm)$<br>$M^{-1}cm^{-1}$ |
|-------------------|--|--|--|
| Oxihemoglobina    | 65481                                      | 27773                                      | 797  |
| Hemoglobina       | 173890                                     | 35843                                      | 3669                                       |
| Melanina          | 1709                                       | 938  | 489  |

Tabla 2: medias ponderadas de los coeficientes de extinción molar de los tres principales cromóforos de la piel para tres intervalos.



*Figura 14: las imágenes muestran un lunar pigmentado (fila de arriba) y una queratosis seborreica (fila de abajo) con sus respectivos mapas de variación de concentración en mM. Tanto las fotos como los resultados han sido sacados del artículo [3].*

disminución del cromóforo, mientras que no hay variaciones de melanina. Igual que con las venas, esto se debe a la prevalencia de oxihemoglobina sobre la hemoglobina, bajando su concentración en ese punto con respecto a las zonas alrededor. Parece por lo tanto que se ha producido una mejora en la sensibilidad de detección del programa.

### 3. f. Validación

A pesar de los resultados obtenidos, para comprobar si el modelo creado funciona no es suficiente con que se permita discriminar las estructuras, es necesario validarlo de forma cuantitativa. A tal propósito se ha repetido el procesado usando las imágenes de algunas de las muestras usadas en la investigación original: un lunar pigmentado y una queratosis seborreica [Fig.14]. Las fotografías han sido extraídas de forma digital desde el artículo y, con el programa que hemos desarrollado, se han calculado sus mapas de variación de concentración usando los coeficientes de extinción molar adaptados al rango de sensibilidad espectral del sensor. El objetivo es estudiar si, usando las mismas fotos, las variaciones de concentración de los cromóforos detectadas en nuestro procesado son parecidos con las resultantes del artículo.

Los mapas obtenidos no presentan grandes diferencias a nivel de visualización [Fig.15]. Respecto a la lectura numérica, todas las escalas están normalizadas, por lo que sumando los máximos y los mínimos en valor absoluto de cada escala se

obtiene el rango de máxima variación de concentración del cromóforo de cada imagen. Se comparan los valores obtenidos [Tabla 3]: las variaciones de concentración máximas detectadas con el programa del modelo simplificado son todas de un grado de magnitud menor que las presentes en el modelo original. Esta pérdida de sensibilidad puede ser causada por la adaptación de los coeficientes de extinción molar a los intervalos, por una alteración de la composición cromática de las imágenes al extraerlas del artículo, o porque se han elegido zonas de piel sana como puntos de referencia distintas a las del artículo, las cuales se desconocen.

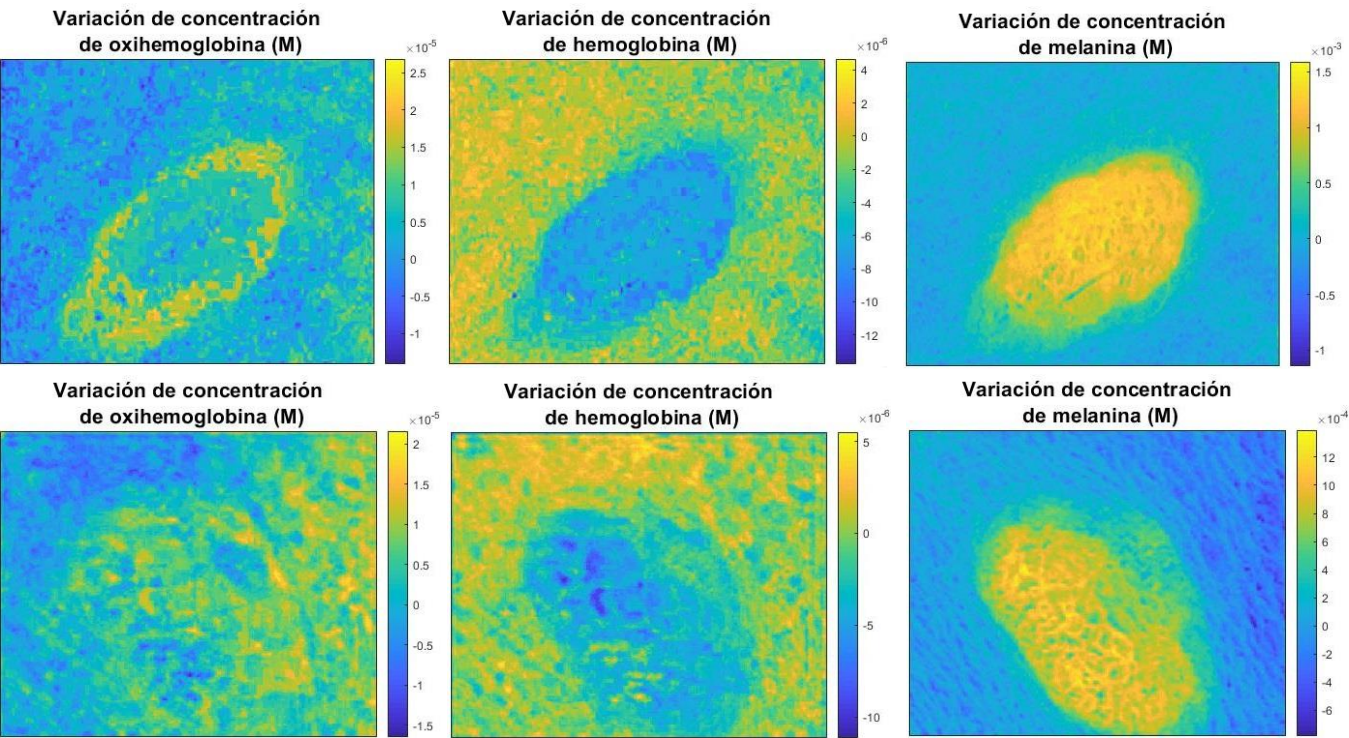


Figura 15: mapas de variación de concentración para un lunar pigmentado (fila de arriba) y una queratosis seborreica pigmentada (fila de abajo). Las imágenes son el resultado del procesado con el modelo simplificado de unas fotografías sacadas del artículo [3].

|   | Máxima variación de concentración de oxihemoglobina (mM) | Máxima variación de concentración de hemoglobina (mM) | Máxima variación de concentración de melanina (mM) |
|---|--|---|--|
| Procesado original de lunar pigmentado          | 0,2  | 0,2   | 10   |
| Procesado original de queratosis seborreica     | 0,2  | 0,2   | 8  |
| Procesado simplificado de lunar pigmentado      | 0,035  | 0,016   | 2,5  |
| Procesado simplificado de queratosis seborreica | 0,035  | 0,015   | 1,8  |

Tabla 3: comparación de los rangos de máxima variación de concentración de oxihemoglobina, hemoglobina y melanina entre los mapas obtenidos de este estudio y los del artículo [3].



## 4. Conclusiones

Como se había propuesto, se ha conseguido reproducir con éxito la investigación: después de procesar las imágenes clínicas se han obtenido los mapas de variación de concentración de los cromóforos. Los mapas creados muestran con una escala de falso color el aumento o disminución de concentración respecto a un punto seleccionado que se ha considerado como sano para la comparación ( $\Delta C = 0$ ). Dicha variación se puede cuantificar y comparar gracias a la escala de concentración molar  $M$  que está ajustada a los valores máximos y mínimos de cada matriz.

Igual que con el modelo original, el programa no basta para llegar a un diagnóstico y sigue siendo necesaria la evaluación de los resultados por parte de un profesional para que estos tengan significado médico, ya que la severidad de una anomalía solo puede ser medida como relación entre tejido enfermo y tejido sano. A pesar de ello se ha demostrado que el modelo simplificado funciona y que se obtienen mapas de concentración sin necesidad de un montaje avanzado. El programa puede detectar variaciones de pigmentación o de vascularización debajo de la superficie de la piel que no es posible apreciar sin ayuda de aparatos o técnicas específicas: por ello podría ser útil como herramienta para ayudar a un profesional a evaluar de forma cualitativa una anomalía dérmica y hacer un seguimiento en el tiempo.

Para que los resultados tengan también valor cuantitativo sería necesario extender la investigación para crear un modelo general de calibración y valorar la optimización de los coeficientes de extinción molar en función de los intervalos. Además, queda por comprobar qué es lo que provoca la disminución de todos los valores de las escalas respecto a los resultados originales, si la cantidad de variación tiene relevancia estadística y cómo esto afecta al diagnóstico de una anomalía.

Al usar luz difusa se ha conseguido evitar las interferencias Speckle que se forman en la superficie de la piel al usar las fuentes de iluminación láser como en el montaje original. La interferencia Speckle o de moteado son fluctuaciones de intensidad causados por las interferencias entre frentes de ondas coherentes[20].

El modelo simplificado se puede mejorar ulteriormente: por ejemplo, con el uso de filtros se podría transformar la luz blanca en un intervalo delimitado de longitudes de onda que se adaptarían mejor a los intervalos espectrales de la cámara. Dichos intervalos son ligeramente distintos según la marca del sensor, pero se podría encontrar unos valores comunes para generalizar y unificar el modelo, de forma que

no haría falta recalcular los intervalos para diferentes dispositivos. Otra mejora sería usar la simulación de Monte Carlo para volver a medir los recorridos de los fotones en el tejido, considerando las distintas longitudes de penetración para cada longitud de onda. Añadiendo términos al sistema de ecuaciones, y ajustando en consecuencia el modelo, se podría aumentar la gama de cromóforos detectables, aunque sería necesario el uso de un sensor más avanzado, ya que el sistema de detección de color de los móviles está limitado a tres canales. Como el objetivo de esta investigación es demostrar que se puede obtener un procesado de imagen útil con un dispositivo móvil común, no tenemos en cuenta tecnología médica avanzada que consta de sensores con más de tres canales, porque es improbable que su uso se extienda fuera del campo médico.

Por último, para facilitar el uso y la accesibilidad de este instrumento de ayuda al diagnóstico a todo profesional se debería adaptar el programa de Matlab a una aplicación para móvil. Los polarizadores no son un elemento cómodo de llevar debido a que no existe en el mercado una sujeción auxiliar específica que ayude a montarlos y removerlos de forma reversible sin necesidad de controlar cada vez la colocación exacta: se podría quitarlos del montaje y buscar una forma de compensar la pérdida de precisión de forma virtual. A pesar de eso, el modelo se basa en el estudio de la luz que llega al sensor, por lo que hay una estricta dependencia con la iluminación ambiental y no es posible obtener las fotos a procesar en condiciones que no sean de oscuridad sin perder la validez de los resultados.

El experimento realizado puede constituir una base de avance para futuros estudios, aunque es necesaria ulterior investigación y desarrollo del montaje para comprobar la validez de las hipótesis descritas. Los constantes avances tecnológicos en el campo de detección de imagen, desarrollo de inteligencias artificiales y creación de base de datos podrían aplicarse a esta investigación y permitir automatizar el proceso para que no sea necesaria supervisión humana en la selección de las zonas de referencia y crear los diagnósticos tentativos.

## 5. Referencias

- [1] J. Spigulis, I. Oshina, A. Berzina, and A. Bykov, "Smartphone snapshot mapping of skin chromophores under triple-wavelength laser illumination.", *J. Biomed. Opt.*, vol. 22, no. 9, p. 091508, Mar. 2017.
- [2] W. Han, "Health care system reforms in developing countries.", *J. Public health Res.*, vol. 1, no. 3, pp. 199–207, Dec. 2012.
- [3] N. B. Niehues, B. Evanson, W. A. Smith, C. T. Fiore, and P. Parekh, "Melanoma patient notification and treatment timelines.", *Dermatol. Online J.*, vol. 25, no. 4, Apr. 2019.
- [4] S. Ege and J. García, *Química orgánica*. Barcelona : Editorial Reverté, 2018.
- [5] H. Shichi, *Biochemistry of vision*. New York : Academic Press, 1983.
- [6] M. A. Anton Revilla, "Óptica Biomédica - Tema 2: Bioespectroscopía."
- [7] R. Liang, *Optical Design for Biomedical Imaging*. SPIE, 2011.
- [8] M. A. Anton Revilla, "Óptica Biomédica - Tema 1: Propiedades ópticas de los tejidos biológicos."
- [9] S. L. Jacques, "Erratum: Optical properties of biological tissues: A review.", *Phys. Med. Biol.*, vol. 58, no. 14, pp. 5007–5008, 2013.
- [10] M. J. Leahy *et al.*, "Diffuse reflection imaging of sub-epidermal tissue haematocrit using a simple RGB camera.", pp. 653503-653503–17, 2007.
- [11] D. S. Kliger, J. W. Lewis, C. E. Randall, and R. M. A. Azzam, "Polarized Light in Optics and Spectroscopy.", *Phys. Today*, vol. 44, no. 10, pp. 117–118, Oct. 1991.
- [12] L. V. Pérez Arribas, *MATLAB. Introducción a las operaciones con matrices*. 2018.
- [13] D. Kusswurm, *Modern x86 Assembly Language Programming*. Apress, 2014.
- [14] S. Prahl, "Tabulated molar extinction coefficient for hemoglobin in water.", 1998. [Online]. Disponible en: <https://omlc.orgi.edu/spectra/hemoglobin/summary.html> [Última consulta: 07-May-2019].
- [15] H. M. Sarna, T. ; Swartz, "The physical properties of melanin," 1998. [Online]. Disponible en: <https://omlc.orgi.edu/spectra/melanin/eumelanin.html> [Última consulta: 07-May-2019].
- [16] "Sample image from Originlab product page (PNG Image)." [Online]. Disponible en: [https://www.originlab.com/www/products/images/ChannelSplit\\_Merge.png](https://www.originlab.com/www/products/images/ChannelSplit_Merge.png) [Última consulta: 17-May-2019].

- [17] H. R. Kang, *Computational Color Technology*. SPIE, 2006.
- [18] M. T. Report, "Master Erasmus Mundus in Color in Informatics and Media Technology ( CIMET ) Mobile Phone Camera Possibilities for Spectral Imaging Master Thesis Report Catalin Matasaru."
- [19] K. K. Sabelfeld and I. Dimov, Eds., *Monte Carlo Methods and Applications*. Berlin, Boston: DE GRUYTER, 2012.
- [20] P. W. Milonni and J. H. Eberly, *Laser physics*. Hoboken, N.J. : John Wiley & Sons, 2010.

## Anexo I

### Programa de cálculo de los mapas de variación de concentración

```
% TFG: MAPA DE CROMÓFOROS CON CAMARA DE MOVIL
% MARCO BELLISARIO Y EDUARDO VILLOTA
% VERSION: 1.5
%
%
close all; clc; clear all;
%
%
% Cargar imagen/Elegir imagen
%
foto=imread('piel3.jpg');
imshow(foto);
%
%
% Separar canales RGB
%
Ri=im2double(foto(:,:,1)); R=(1e-10)+Ri;
Gi=im2double(foto(:,:,2)); G=(1e-10)+Gi;
Bi=im2double(foto(:,:,3)); B=(1e-10)+Bi;
figure;
subplot(2,2,1); imshow(foto); title(' Imagen original RGB');
subplot(2,2,2); imshow(R); title('Canal R');
subplot(2,2,3); imshow(G); title('Canal G');
subplot(2,2,4); imshow(B); title('Canal B');
%
%
% Ver los canales en color (Opcional)
%
allBlack=zeros(size(foto, 1), size(foto, 2), 'uint8');
Rv=cat(3, R, allBlack, allBlack);
Gv=cat(3, allBlack, G, allBlack);
Bv=cat(3, allBlack, allBlack, B);
figure;
subplot(2,2,1); imshow(foto); title(' Imagen original RGB');
subplot(2,2,2); imshow(Rv); title('Canal R visible');
subplot(2,2,3); imshow(Gv); title('Canal G visible');
subplot(2,2,4); imshow(Bv); title('Canal B visible');
%
%
%
%
% Introducir constantes
%
% Longitudes de onda
Lamda_1= 448; %nm
Lamda_2= 532; %nm
Lamda_3= 659; %nm
%
% Camino óptico total
L1= 0.086; %cm
L2= 0.155; %cm
L3= 0.295; %cm
%
% Coeficientes de extinción molar para Lamda_1=448nm
E_oxy_l1 = 67044; %[M^-1cm^-1]
E_hemo_l1 = 173320; %[M^-1cm^-1]
E_mela_l1 = 1935; %[M^-1cm^-1]
```

```

%
% Coeficientes de extinción molar para Lamda_2=532nm
E_oxy_l2 = 45400; %[M^-1cm^-1]
E_hemo_l2 = 41336; %[M^-1cm^-1]
E_mela_l2 = 1170; %[M^-1cm^-1]
%
% Coeficientes de extinción molar para Lamda_3=659nm
E_oxy_l3 = 320; %[M^-1cm^-1]
E_hemo_l3 = 3227; %[M^-1cm^-1]
E_mela_l3 = 541; %[M^-1cm^-1]
%
%
%
%
% Seleccionar de la imagen los valores de Io para cada canal
%
figure; imshow(foto);
set(gcf, 'Units', 'Normalized', 'OuterPosition', [0 0 1 1]);
set(gcf, 'Toolbar', 'none', 'Menu', 'none');
set(gcf, 'Name', 'Imagen por diagnosticar', 'NumberTitle', 'Off');
title('Elegir la zona de referencia (arrastrar con tecla izquierda del
raton y con tecla derecha elegir opción crop)');
submatriz=imcrop;
close;
submatrizR=im2double(submatriz(:,:,1));
submatrizG=im2double(submatriz(:,:,2));
submatrizB=im2double(submatriz(:,:,3));
Io1=mean2(submatrizB); % Intensidades para Lamda_1=448nm (color B)
Io2=mean2(submatrizG); % Intensidades para Lamda_2=532nm (color G)
Io3=mean2(submatrizR); % Intensidades para Lamda_3=659nm (color R)
%
%
% Sistema de 3 ecuaciones
%
% Adelantar las cuentas con las constantes
a1 = L1 * E_oxy_l1;
b1 = L1 * E_hemo_l1;
c1 = L1 * E_mela_l1;
a2 = L2 * E_oxy_l2;
b2 = L2 * E_hemo_l2;
c2 = L2 * E_mela_l2;
a3 = L3 * E_oxy_l3;
b3 = L3 * E_hemo_l3;
c3 = L3 * E_mela_l3;
% Definir dimension de la matriz y crear matriz resultado
[M,N]=size(R);
delta_Co=zeros(size(R));
delta_Ch=zeros(size(R));
delta_Cm=zeros(size(R));
% Sistema lineal
X=[a1 b1 c1 ; a2 b2 c2 ; a3 b3 c3];
for j=1:M
    for n=1:N
        k1 = -log10(B(j,n)/Io1);
        k2 = -log10(G(j,n)/Io2);
        k3 = -log10(R(j,n)/Io3);
        K=[k1 ; k2 ; k3];
        S=linsolve(X,K);
        delta_Co(j,n)= S(1,1);
        delta_Ch(j,n)= S(2,1);
        delta_Cm(j,n)= S(3,1);
    end
end
end

```

```

%
%
% Representar los mapas
%
% Encontrar valor máximo de la matriz 1
delta_Co(:);
[max1,I1] = max(delta_Co(:));
[I1_row, I1_col] = ind2sub(size(delta_Co),I1);
max1 = max(max(delta_Co));
% Encontrar valor mínimo de la matriz 1
[min1,I1] = min(delta_Co(:));
[I1_row, I1_col] = ind2sub(size(delta_Co),I1);
min1 = min(min(delta_Co));
% Encontrar valor máximo de la matriz 2
delta_Ch(:);
[max2,I2] = max(delta_Ch(:));
[I2_row, I2_col] = ind2sub(size(delta_Ch),I2);
max2 = max(max(delta_Ch));
% Encontrar valor mínimo de la matriz 2
[min2,I2] = min(delta_Ch(:));
[I2_row, I2_col] = ind2sub(size(delta_Ch),I2);
min2 = min(min(delta_Ch));
% Encontrar valor máximo de la matriz 3
delta_Cm(:);
[max3,I3] = max(delta_Cm(:));
[I3_row, I3_col] = ind2sub(size(delta_Cm),I3);
max3 = max(max(delta_Cm));
% Encontrar valor mínimo de la matriz 3
[min3,I3] = min(delta_Cm(:));
[I3_row, I3_col] = ind2sub(size(delta_Cm),I3);
min3 = min(min(delta_Cm));
% Visualizar las fotos en falsocolor
clims1=[min1,max1];
clims2=[min2,max2];
clims3=[min3,max3];
figure; imagesc(delta_Co, clims1); title('Variacion de Co'); colorbar;
figure; imagesc(delta_Ch, clims2); title('Variacion de Ch'); colorbar;
figure; imagesc(delta_Cm, clims3); title('Variacion de Cm'); colorbar;
% Fin

```

## Anexo II

Programa que calcula la media ponderada de los coeficientes de extinción molar en función de los intervalos:

```
clc; close all; clear all;
% Cargar tablas
tabla_Oxy_hemo = importdata('Hemoglobina.txt');
% Separar columnas
X1=tabla_Oxy_hemo(:,1); % Columna 1, longitudes de onda
Y1=tabla_Oxy_hemo(:,2); % Columna 2, Coeficientes de extinción molar de
oxyhemoglobina
X2=tabla_Oxy_hemo(:,1); % Columna 1, longitudes de onda
Y2=tabla_Oxy_hemo(:,3); % Columna 3, Coeficientes de extinción molar de
hemoglobina
% Intervalos
lambda_min1= 420; lambda_max1= 480;
lambda_min2= 510; lambda_max2= 570;
lambda_min3= 590; lambda_max3= 670;
%
% Medias ponderadas intervalo 1
Cord_min_int1 = X1==lambda_min1;
Cord_max_int1 = X1==lambda_max1;
[row1,col] = find(Cord_min_int1);
[row2,col2] = find(Cord_max_int1);
% Coeficiente de extinción molar oxihemoglobina
submatrizE_oxy_int1 =Y1(row1:row2,1);
[max11,I1] = max(submatrizE_oxy_int1(:));
matriz_relacion11= submatrizE_oxy_int1 * (1/max11);
valores_ponderados11 =(submatrizE_oxy_int1.* matriz_relacion11);
media_E_oxy_int1 = mean(valores_ponderados11,1)
% Coeficiente de extinción molar hemoglobina
submatrizE_hemo_int1 =Y2(row1:row2,1);
[max12,I1] = max(submatrizE_hemo_int1(:));
matriz_relacion12= submatrizE_hemo_int1 * (1/max12);
valores_ponderados12 =(submatrizE_hemo_int1.* matriz_relacion12);
media_E_hemo_int1 = mean(valores_ponderados12,1)
% Coeficiente de extinción molar melanina
A1=lambda_min1:1:lambda_max1;
submatrizE_mela_int1=0.022*(A1.^2)- 31.474*A1 + 11700;%Regresión polinomial
[max13,I1] = max(submatrizE_mela_int1);
matriz_relacion13= submatrizE_mela_int1 * (1/max13);
valores_ponderados13 =(submatrizE_mela_int1.* matriz_relacion13);
media_E_mela_int1 = mean(rot90(valores_ponderados13,1))
%
% Medias ponderadas intervalo 2
Cord_min_int2 = X1==lambda_min2;
Cord_max_int2 = X1==lambda_max2;
[row1,col] = find(Cord_min_int2);
[row2,col2] = find(Cord_max_int2);
% Coeficiente de extinción molar oxihemoglobina
submatrizE_oxy_int2 =Y1(row1:row2,1);
[max21,I1] = max(submatrizE_oxy_int2(:));
matriz_relacion21= submatrizE_oxy_int2 * (1/max21);
valores_ponderados21 =(submatrizE_oxy_int2.* matriz_relacion21);
media_E_oxy_int2 = mean(valores_ponderados21,1)
% Coeficiente de extinción molar hemoglobina
submatrizE_hemo_int2 =Y2(row1:row2,1);
[max22,I1] = max(submatrizE_hemo_int2(:));
matriz_relacion22= submatrizE_hemo_int2 * (1/max22);
valores_ponderados22 =(submatrizE_hemo_int2.* matriz_relacion22);
```



```

media_E_hemo_int2 = mean(valores_ponderados22,1)
% Coeficiente de extinción molar melanina
A2=lambda_min2:1:lambda_max2;
submatrizE_mela_int2=0.022*(A2.^2)- 31.474*A2 + 11700;%Regresión polinomial
[max23,I1] = max(submatrizE_mela_int2);
matriz_relacion23= submatrizE_mela_int2 * (1/max23);
valores_ponderados23 =(submatrizE_mela_int2.* matriz_relacion23);
media_E_mela_int2 = mean(rot90(valores_ponderados23,1))
%
% Medias ponderadas intervalo 3
Cord_min_int3 = X1==lambda_min3;
Cord_max_int3 = X1==lambda_max3;
[row1,col1] = find(Cord_min_int3);
[row2,col2] = find(Cord_max_int3);
% Coeficiente de extinción molar oxihemoglobina
submatrizE_oxy_int3 =Y1(row1:row2,1);
[max31,I1] = max(submatrizE_oxy_int3(:));
matriz_relacion31= submatrizE_oxy_int3 * (1/max31);
valores_ponderados31 =(submatrizE_oxy_int3.* matriz_relacion31);
media_E_oxy_int3 = mean(valores_ponderados31,1)
% Coeficiente de extinción molar hemoglobina
submatrizE_hemo_int3 =Y2(row1:row2,1);
[max32,I1] = max(submatrizE_hemo_int3(:));
matriz_relacion32= submatrizE_hemo_int3 * (1/max32);
valores_ponderados32 =(submatrizE_hemo_int3.* matriz_relacion32);
media_E_hemo_int3 = mean(valores_ponderados32,1)
% Coeficiente de extinción molar melanina
A3=lambda_min3:1:lambda_max3;
submatrizE_mela_int3=0.022*(A3.^2)- 31.474*A3 + 11700;%Regresión polinomial
[max33,I1] = max(submatrizE_mela_int3);
matriz_relacion33= submatrizE_mela_int3 * (1/max33);
valores_ponderados33 =(submatrizE_mela_int3.* matriz_relacion33);
media_E_mela_int3 = mean(rot90(valores_ponderados33,1))
% Fin

```

## Anexo III

Programa de cálculo para mostrar las gráficas de los coeficientes de extinción

molar:

```
clc; close all; clear all;
% Abrir tablas
Hemoglobina = importdata('Hemoglobina.txt');
Melanina = importdata('Melanina.txt');
% Separar datos
X1=Hemoglobina(:,1);
Y1=Hemoglobina(:,2);
X2=Hemoglobina(:,1);
Y2=Hemoglobina(:,3);
X3=Melanina(:,1);
Y3=Melanina(:,2);
% Pintar grafica para 3 longitudes de onda puntuales
plot(X1,Y1,'r',X2,Y2,'b',X3,Y3)
set(gca, 'YScale', 'log')
x1=xline(448,'-',{'448'});
x1.LabelOrientation = 'horizontal';
x2=xline(532,'-',{'532'});
x2.LabelOrientation = 'horizontal';
x3=xline(659,'-',{'659'});
x3.LabelOrientation = 'horizontal';
xlabel('Longitud de onda (nm)');
ylabel('Coeficiente de extinción molar (cm-1/M)');
legend('Oxihemoglobina','Desoxihemoglobina','Melanina','Location','southwest');
figure;
% Pintar tabla con intervalos
plot(X1,Y1,'r',X2,Y2,'b',X3,Y3)
set(gca, 'YScale', 'log')
x12=xline(420,'-',{'Intervalo 1','420-480'}); x11=xline(480);
x12.LabelOrientation = 'horizontal';
x22=xline(510,'-',{'Intervalo 2','510-570'}); x12=xline(570);
x22.LabelOrientation = 'horizontal';
x32=xline(580,'-',{'Intervalo 3','590-670'}); x13=xline(640);
x32.LabelOrientation = 'horizontal';
xlabel('Longitud de onda (nm)');
ylabel('Coeficiente de extinción molar (cm-1/M)');
legend('Oxihemoglobina','Desoxihemoglobina','Melanina','Location','southwest');
% Fin
```